

マウスの性周期及び妊娠に伴うNK活性の変動

著者	古川 和美
号	923
発行年	1984
URL	http://hdl.handle.net/10097/25385

氏 名（本籍）	ふる古	かわ川	かず和	み美
学 位 の 種 類	医	学	博	士
学 位 記 番 号	医 博 第	9 2 3	号	
学位授与年月日	昭 和	5 9 年	3 月	2 7 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当			
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学研究科			
	（博士課程）外科学系専攻			
学 位 論 文 題 目	マウスの性周期及び妊娠に伴うNK活性の変動			

（主 査）

論文審査委員 教授 鈴木 雅 洲 教授 吉 永 馨

教授 橘 武 彦

論文内容要旨

目 的

ナチュラルキラー（NK）細胞は生体防御や造血幹細胞の分化の制御などに関与する細胞として研究が進められているが、性周期・妊娠におけるNK細胞の動態については不明な点が多い。そこで今回はマウスを用いて性周期・妊娠に伴うNK活性と、その調節機構について検討した。

材 料 と 方 法

(1)マウス；7～11週齢のC3H/Heマウスを用いた。性周期は陰スメアを鏡検することにより決定した。妊娠は陰栓の有無で判定し、陰栓の認められた日を妊娠0日とした。(2)エフェクター細胞；脾細胞としては未分画、カルボニル鉄非貪食かつナイロンウール非付着分画、及びPercoll不連続密度勾配遠心法で得られたNK濃縮分画を用いた。末梢血単核球にはFicoll Isopaque比重遠心法により得られた単核球を用いた。リンパ節としては頸部及び鼠径部リンパ節を用い、また腹腔浸出細胞は腹腔をリン酸緩衝液（PBS）で洗浄することにより得た。(3)標的細胞；YAC-1細胞を用いた。(4)NK活性の測定； ^{51}Cr で標識したYAC-1（ 1×10^4 ）に種々の割合でエフェクター細胞を加え、4時間培養後、上清中に遊離した放射活性を γ カウンターで測定した。NK活性は主としてLytic unit（LU）にて表現した。(5)抗アシアロGM $_1$ 抗体及び補体による脾細胞処理；脾細胞と抗アシアロGM $_1$ 抗体（ $\times 50$ ）を室温で30分間反応させ、脾細胞をPBSで洗浄した後、モルモット血清（ $\times 10$ ）と37℃、30分間反応させた。(6)アシアロGM $_1$ 陽性細胞の検出；蛍光抗体間接法を用いた。

成 績

(1)性周期に伴うNK活性の変動；未分画脾細胞、末梢血ともに、発情前期、発情期で同程度のNK活性を示したが、発情後期-1, 2で上昇傾向を示し、発情間期では再び発情前期のレベルに戻った。この傾向は特に末梢血において著明であった。ただし単核球中のアシアロGM $_1$ 陽性細胞の割合は脾臓、末梢血ともに性周期を通して不変であった。尚、リンパ節や腹腔浸出細胞のNK活性は性周期を通してほとんど検出できなかった。(2)妊娠及び分娩に伴うNK活性の変動；非妊娠マウスの発情期をコントロールに選び、妊娠6日、12日、18日、産褥1日及び6日を対象とした。未分画脾細胞、末梢血ともに妊娠初期～中期には強いNK活性の抑制が認められ、分娩前後には逆に増強傾向が得られた。ただしそのカイネティックスは多少異なっており、NK活性のピークは脾臓では妊娠18日に、末梢血では産褥1日にそれぞれ認められた。リンパ節や腹腔浸出細胞の

NK活性はいずれの時期でもほとんど検出されなかった。(3)非妊時、妊娠各期の未分画脾細胞は抗アシアロGM₁抗体と補体による処理で、NK活性が消失した。従って、性周期、妊娠を通して脾細胞NK活性はアシアロGM₁陽性のNK細胞により担当されていることが示された。(4)妊娠に伴う未分画脾細胞のNK活性が妊娠初期～中期で低下し、分娩前に上昇したため、その原因を追求する目的で、妊娠6日と18日の脾細胞よりNK細胞を精製して比較検討した。その結果、カルボニル鉄非貪食性ナイロンウール非付着性分画やPercoll不連続密度勾配遠心法により得られたNK精製分画ではNK活性の差が消失した。尚、性周期においても、NK活性の低い発情期と活性の高い発情後期-2との検討で同様の成績が得られた。これらのことから、性周期、妊娠における脾臓のNK活性は貪食性付着性細胞により制御されていることが示唆された。このことは再構成の実験からも裏づけられた。すなわち妊娠6日、あるいは18日の脾細胞より付着性細胞をとり除いておき、これと妊娠6日の脾付着性細胞を混合するとNK活性は抑制された。これらの付着性細胞はエステラーゼ染色強陽性でかつイースト貪食性であることよりマクロファージと判断された。

結 論 及 び 考 察

性周期に伴い脾細胞、末梢血のNK活性は発情後期-2にピークをもつ一相性の変動を示した。また妊娠、分娩に伴うNK活性は、末梢血、脾臓とともに妊娠初期～中期には低下し、分娩前後で著明に上昇した。これらのNK活性の変動は性ホルモン、妊娠関連ホルモン、あるいはその他の未知の因子により律せられていると想定されるが、貪食性付着性細胞が性周期、妊娠中の脾NK活性の制御に関与していることを示唆する結果を得たため、その作用機序は細胞を介している可能性が強い。今回観察されたNK活性の変動が如何なる意義をもつのかは不明であるが、妊娠におけるパターンからはNK細胞が妊娠継続よりはむしろ分娩、すなわち胎児の排除に一役を荷っている可能性も考えられ、今後の追求が必要と思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

ナチュラルキラー（NK）細胞は生体防御や造血幹細胞の分化の制御などに関与する細胞として研究が進められているが、性周期や妊娠におけるNK細胞の動態については不明な点が多い。そこで今回はマウスを用いて性周期・妊娠に伴うNK活性とその調節機構について検討した。7～8週齢のC3H/He雌マウスを使用した。メイトリングは10～30週齢の同雄マウスとで行った。NK活性は標的細胞YAC-1の ^{51}Cr 放出を4時間 assay により測定した。性周期に伴う末梢血のNK活性は発情後期-2にピークをもつ一相性の変動を示した。しかし、末梢血単核球中に占めるNK細胞の割合は asialo GM $_1$ 陽性細胞を指標として検討したところ、性周期を通して有意な変動は認められなかった。脾臓におけるNK活性も末梢血の場合と同様のパターンを示し、また脾細胞中の asialo GM $_1$ 陽性細胞の割合は有意な変動を示さなかった。妊娠に伴うNK活性は末梢血、脾臓共に妊娠初期～中期には強い抑制が認められ、分娩前後には逆に増強傾向が得られた。ただしそのカイネティックスは多少異なっており、NK活性のピークは末梢血では産褥1日に、脾臓では妊娠18日にそれぞれ認められた。妊娠18日の脾細胞を抗 asialo GM $_1$ 抗体と補体で処理したところ、NK活性は消失した。従ってこの時期における脾細胞での高いNK活性は asialo GM $_1$ 陽性のNK細胞によるものと考えられた。妊娠に伴う脾臓のNK活性が妊娠初期～中期で低下し、分娩前に上昇を来したため、その原因を追求する目的で、妊娠6日と18日の脾細胞を精製して比較検討した。すなわち、脾細胞をカルボニル鉄及びナイロンウール処理により非貪食性非付着性細胞を得、これをさらに Percoll 不連続密度勾配遠心法により精製NK分画（Fraction 1）を得てこれらのNK活性を比較した。しかし未分画脾細胞の場合と異なり、非貪食性非付着性細胞や精製NK分画のNK活性は、妊娠6日及び18日の脾細胞間で有意差は認められなかった。尚、性周期においてNK活性の高い発情後期-2と活性の低い発情期の脾細胞を用いて同様に検討したが、非貪食性非付着性細胞のNK活性は両者間で差を認めなかった。頸部・単径部リンパ節や腹腔浸出細胞ではNK活性は性周期・妊娠を通してほとんど検出されなかった。以上性周期においてはNK活性は末梢血、脾臓共に発情後期-2でピークとなる一相性の変動が認められた。また妊娠時は末梢血、脾臓ともに妊娠初期～中期には強い抑制が認められ、分娩前後には逆に増強傾向が得られた。これらのNK活性の変動は貪食性付着性細胞、すなわちマクロファージにより制御されていることが示唆された。以上、本論文は学位授与するに価するものと判定した。